лена протопластическими пучками в периплазматическом пространстве, скоплением рибосом, тонкими нитями ДНК, трубчатыми и везикулярными пространствами.

5. Размножение анаплазм происходит простым делением и почкованием.

6. С помощью ПЦР секвенирования установлены генетические особенности анаплазм выделенных из патологического материала от крупного рогатого скота в Омской области. При этом нуклеотидная последовательность фрагмента гена 16s рРНК (AY649325) «Anaplasma sp. Omsk» отличается от таковой Anaplasma marginale и Anaplasma centrale, т.е. Anaplasma sp. Omsk является самостоятельным представителем анаплазм, выделенном в Западной Сибири.

РЕЗЮМЕ

Из патологического материала (селезенок) клинически больных анаплазмозом коров и телят в двух хозяйствах Омской области выделены анаплазмы. Изучены их основные биологические, ультраструктурные и генетические свойства. По нуклеотидной последовательности фрагмента гена 16s рРНК AY649325 «Anaplasma sp. Omsk» является новым представителем анаплазм, выделенном в Западной Сибири.

RESUME

Bovine strain of new anaplasma strain «Anaplasma Omsk» was isolated from cattle in West Sibiria. Anaplasmae were detected in bovine erythrocytes. Ultrastructure and morphology, genetic properties were cultivated in Vero cells lines with cumulation of morulae. Intraphagosomic cycles of development were detected by electron microscopy. Comparative analysesi of sequences of 16s rRNAgene fragment showd differeases of DNA «Anaplasma Omsk» from DNA A. marginale and A. centrale.

Литература

1. Г.С. Дзасохов. Диагностика протозойных болезней животных. М.: Сельхозгиз, 1959. 245 с.
2. Л.П. Артеменко. Анаплазмоз крупного рогатого скота // Ветеринария. 1974. № 12. С. 57-58.
3. О. П. Ананьев, Т. Т. Сулейменов. Получение растворимых антигенов A. ovis различными методами // Эпизоотология, иммунитет, диагностика и химиопрофилактика паразитов сельскохозяйственных животных в Казахстане. Алма-Ата, 1984. С. 3-8.
4. Ristic M. Infectious blood diseases of man and animals, 1960. Vol. 2. P. 5-8.
5. В. М. Петешев. Анаплазмы и анаплазмоз овец. Алма-Ата: Наука, 1975. 237 с.
6. Г. Г. Гасанов. Некоторые вопросы эпизоотологии и лечения анаплазмоза крупного рогатого скота в Азербайджанской республике: автореф. дис. канд. вет. наук. Баку, 1968. 18 с.
7. М.Ш. Акбаев. Паразитология и инвазионные болезни животных. М.: Колос, 1998. 472 с.

УДК 619:616.993.1:535.42:636.2

А.П. Красиков, Н.В. Рудаков, К.К. Бейсембаев, И.Е. Самойленко

ИВМ ФГОУ ВПО ОмГАУ, ФГУ НИИПОИ Роспотребнадзора

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ КЛЕЩЕЙ В ПЕРЕДАЧЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ АНАПЛАЗМОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Одним из важнейших моментов в борьбе с инфекционными болезнями является установление фактора передачи возбудителя инфекции – одного из звеньев в эпизоотической цепи.

Учитывая роль иксодовых клещей как среды обитания Rickettsiales, экспериментальное изучение их взаимоотношений имеет существенное значение для познания закономерностей существования природных очагов.

Во время питания клещей кровью животных анаплазмы проникают в их кишечник, где и размножаются. Передача анаплазм происходит трансфазно и трансовариально [1].

Гранулоцитарный эрлихиоз человека – это трансмиссивное зоонозное, остролихорадочное заболевание, передающееся при присасывание клещей и часто приводящее к летальному исходу. Клинические признаки болезни: синдром интоксикации, поражения органов и гематологические нарушения, зависящие от вида возбудителя. Длительное время считалось, что эрлихии вызывают болезни только у животных и не представляют опасности для человека. В настоящее время доказано развитие у человека трех заболеваний, вызываемых эрлихиями – эрлихиоза Сеннетсу (Neorickettsia sennetsu), моноцитарного эрлихиоза (Ehrlichia chaffeensis) и гранулоцитарного эрлихиоза (Anaplasma phagocytophila) [2].

В последнее время благодаря широко-

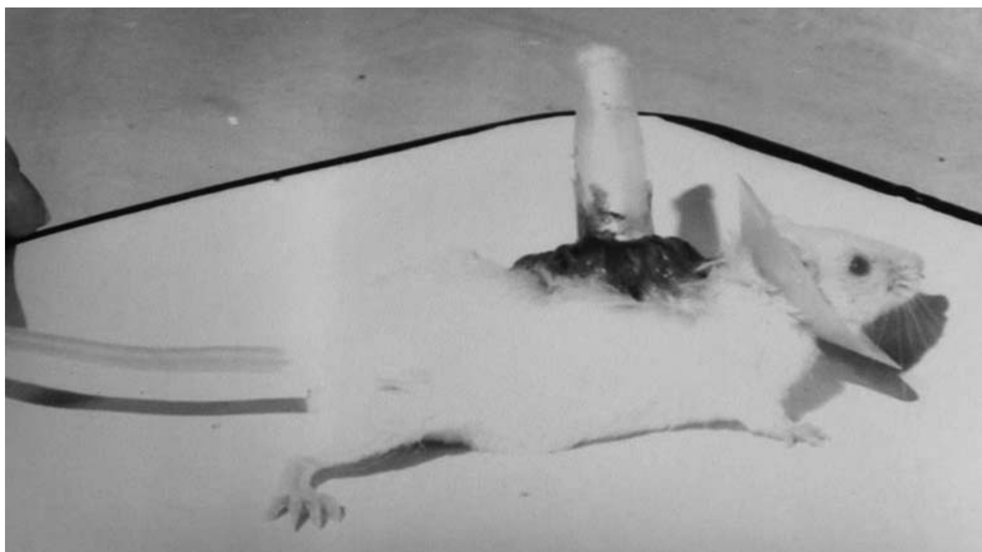


Рисунок 1. Мышь, подготовленная для кормления имаго клещей

му внедрению методов генетического анализа пересмотрена филогенетическая позиция представителей семейства Anaplasmataceae. Вследствие этого E. phagocytophila - этологический агент гранулоцитарного эрлихиоза человека (ГЭЧ) была реклассифицирована и помещена в соседний род Anaplasma семейства Anaplasmataceae. На территории Алтайского края на фоне роста заболеваемости клещевым риккетсиозом (КР) часть случаев серонегативного КР была верифицирована с использованием реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) как гранулоцитарный эрлихиоз. В Дальневосточном регионе серологическим методом установлена заболеваемость людей гранулоцитарным эрлихиозом с некоторыми клиническими отличиями от описанного в Америке ГЭЧ [3].

Из обследованных территорий отдельные районы Новосибирской области и Алтайского края характеризуются высоким уровнем заболеваемости КР. Это заболевание также регистрируют в некоторых районах Тюменской области. Эпидемически значимыми переносчиками R. sibirica - этиологического агента КР - являются клещи рода Dermacentor (D. nuttalli, D. marginatus, D. silvarum), а также Haemaphysalis concinna. На обследованных территориях в зоне лесостепи ареалы I. persulcatus и клещей рода Dermacentor пересекаются. С учетом этого особого внимания заслуживают находки антител к возбудителю ГЭЧ у серонегативных на КР больных с клиникой, типичной для этого риккетсиоза, в Алтайском крае [3].

Цель данных исследований: изучить в экспериментальных условиях роль клещей в передаче возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота.

Задачи исследования

♦ Установить восприимчивость клещей D. reticulatus и D. silvarum к возбудителю анаплазмоза крупного рогатого скота (A. sp. Omsk), и сохраняемость последнего в теле беспозвоночного, при интрацеломальном заражении.

♦ Определить эффективность вертикальной (ТОП, ТФТ) передачи A. sp. Omsk, в процессе метаморфоза клещей D. reticulatus и D. silvarum.

Материалы и методы

В работе были использованы лабораторные линии клещей D. reticulatus (во втором поколении) и D. silvarum (в четвертом поколении).

Кормление пар клещей (самка и самец) проводили на взрослых лабораторных животных (белые мыши) (рис. 1). Клещей помещали под колпак из полистирола, наклеенный на животное. С целью предотвращения снятия наклеек и счесывания клещей животным надевали жесткие воротники, ограничивающие подвижность.

Напитавшихся самок (рис. 13) помещали в стеклянный контейнер (рис. 2) (стеклянная трубка диаметром 30–50 мм и длинной 300–400 мм; у концов трубки – отверстия с бортиками, диаметром 10 мм, закрывающиеся ватно-марлевыми пробками; один конец цилиндра закрывали влажной пробкой, другой – сухой).

Контейнеры с клещами хранили в тер-

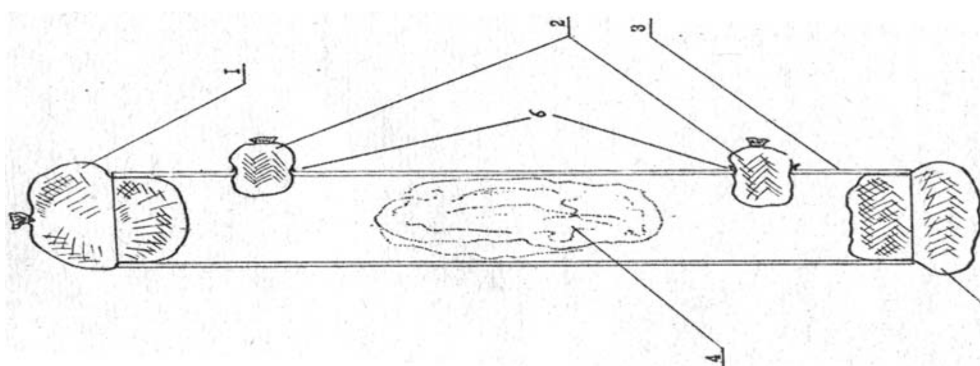


Рисунок 2. Стеклянный контейнер для разведения и содержания иксодовых клещей в лаборатории
Обозначения: 1 - большая сухая ватно-марлевая пробка; 2 - малые сухие ватно-марлевые пробки; 3 - стеклянный цилиндрический корпус; 4 - фильтровальная бумага; 5 - влажный спрессованный ватный тампон; 6 - боковые отверстия с бортиками

мостате при +28° С в горизонтальном положении. Оптимальные условия влажности клещи выбирали сами в диапазоне от влажной до сухой ватно-марлевой пробки.

Появившееся потомство (рис. 4, 5) содержали в серийных кормлениях-линьках «личинка – нимфа - имаго». Для кормления личинок и нимф использовали сосунков белых мышей – сосунка помещали в стеклянный контейнер и с помощью тонкой кисточки наносили на них клещей (по одной особи или пулами – до 25 личинок и до 5 нимф) (рис. 6, 7, 8, 9).

Для заражения клещей использовали восьми суточную культуру полевого штамма Anaplasma sp. Omsk, полученную на культуре клеток Vero. Культура была выделена из селезенки от больной анаплазмозом коровы в острой форме (глубокая анемия, температура тела – 40,8°С, расстройство сердечной деятельности, истощение, атония желудочно-кишечного тракта, отеки век, подгрудка, паразитемия – 36% зараженных клеток).

Голодных половозрелых клещей (самец и самка) заражали интрацеломально с помощью микроинъектора путем прокалывания мембраны у основания четвертой коксы клеща, в дозе 0,2–0,3 мкл. Для этого нами было отобрано и заражено 140 голодных половозрелых особей (самцы и самки) по 70 экземпляров на каждый вид клещей.

Для изучения восприимчивости клещей D. reticulatus и D. silvarum к возбудителю анаплазмоза крупного рогатого скота, их исследовали через 14 дней после заражения, а для определения сохраняемости последнего в теле беспозвоночного, через 60 дней. Исследования проводили индивидуально по 30 особей от каждой линии клещей, путем тотального приготовления мазков-отпечатков. Изучение уровня трансовариальной (ТОП) и трансфазовой (ТФП) передачи анаплазм проводили с использованием выше описанной методики работы

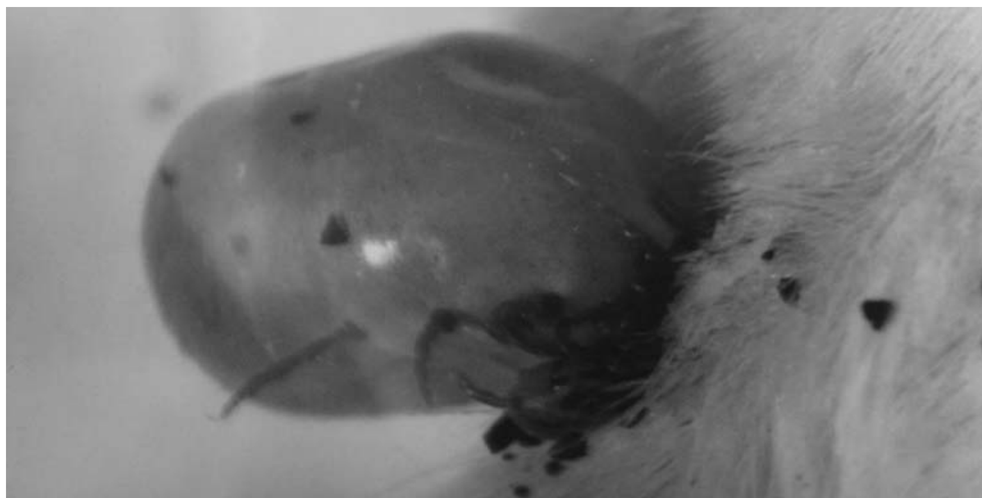


Рисунок 3. Напитавшаяся кровью самка иксодид

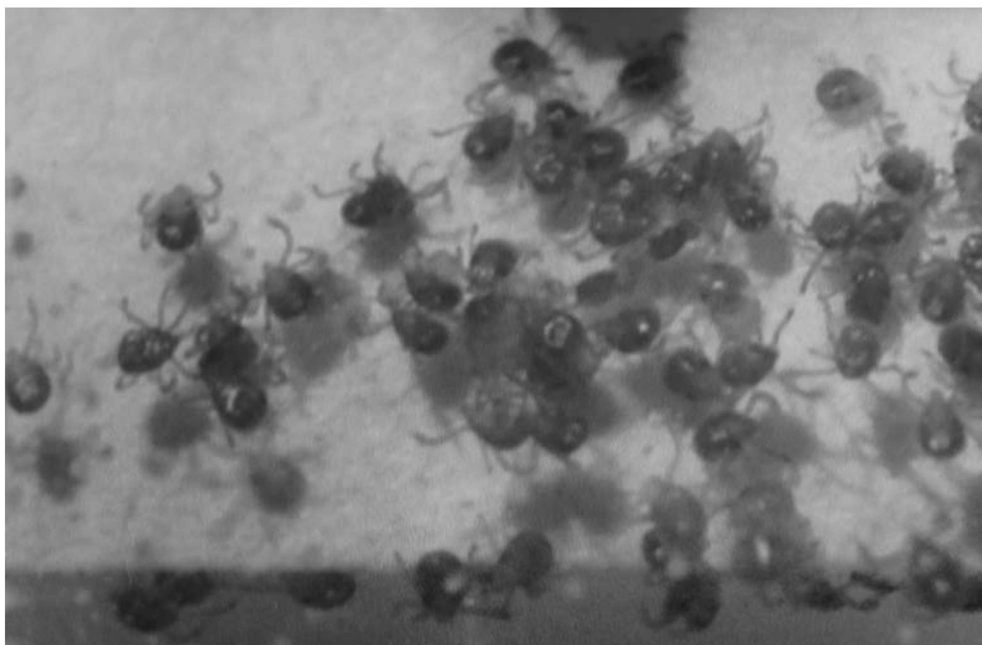


Рисунок 4. Личинки (голодные) иксодовых клещей



Рисунок 5. Нимфы (голодные) иксодовых клещей

с неполовозрелыми иксодовыми клещами.

Контроль инфицированности проводили путем просмотра мазков-отпечатков и подсчета количества зараженных клеток в 100 полях зрения светового микроскопа (МБИ – 15), с использованием иммерсионного объектива при увеличении 100*15 (*1500). Мазки-отпечатки из органов и тканей клещей, селезенок мышей-сосунков окрашивали по Романовскому-Гимзе.

Результаты исследований

Через 14 суток после заражения, число инфицированных особей A. sp. Omsk, составило - 53,3±9,1% у клещей D. reticulatus и 43,3±9,0% у клещей D. silvarum. Через 60 суток, она составила – 63,3±8,8% у клещей D. reticulatus и 56,6±9,0% у клещей D. silvarum (рис. 10).

Кроме изучения восприимчивости экспериментальных линий клещей D.

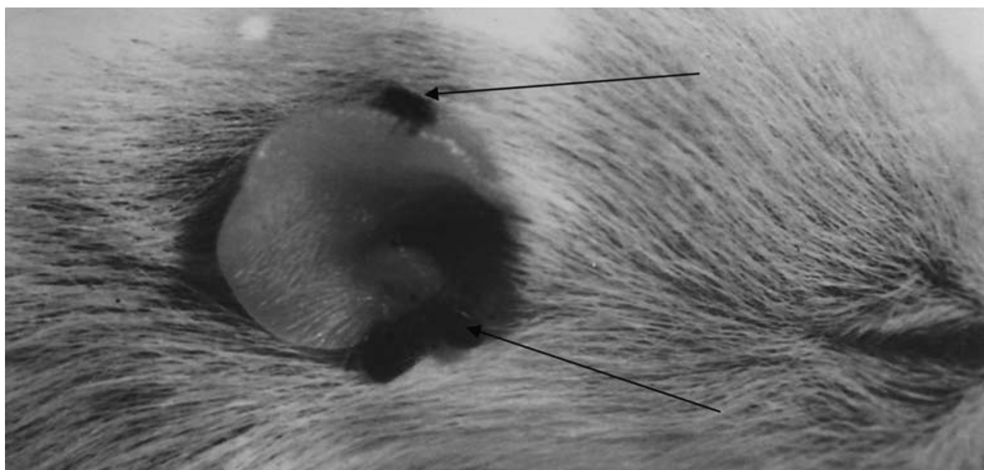


Рисунок 6. Кормление преимагинальных стадий, на сосунках белых мышей

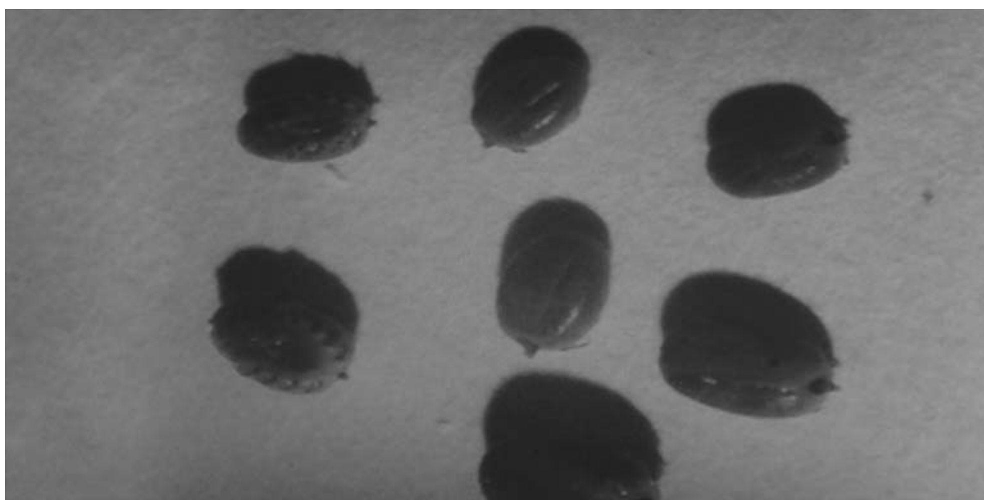


Рисунок 7. Нимфы иксодовых клещей, после кровопитания



Рисунок 8 Имаго иксодовых клещей, после линьки (с чешуйками)



Рисунок 9. Вид контейнера, для содержания иксодовых клещей

reticulatus и D. silvarum к возбудителю анаплазмоза крупного рогатого скота и сохраняемости последнего, изучали его трансовариальную и трансфазовую передачи.

Для этого из числа зараженных особей было отобрано 6 пар (самец + самка) голодных половозрелых клещей D. reticulatus и 4 пары клещей D. silvarum. Для полного напитывания клещей было необходимо от 7 до 12 суток. Успешно удалось накормить 9 пар (самец + самка) половозрелых клещей, из них 6 пар D. reticulatus и 3 пары - D. silvarum. Яйцекладка (рис. 11) осуществлялась на 4 – 8 сутки после кормления. Выход личинок (рис. 4) приходился на 11 – 14 сутки после начала яйцекладки. Потомство удалось получить от 4 пар половозрелых клещей D. reticulatus и одной пары D. silvarum.

Для дальнейшей работы, нами было отобрано три экспериментально зараженные линии клещей (две - D. reticulatus и одну - D. silvarum), самки которых дали хорошую яйцекладку, с наилучшим выходом личинок.

Образцы личинок и нимф от этих экспериментальных линий исследовали как в голодном состоянии, так и после напитывания. При этом в голодном состоянии количество исследованных экземпляров у клещей D. reticulatus составляло по 100 личинок и - 50 нимф, после напитывания – не менее 50 личинок и 50 нимф. У клещей D. silvarum количество исследованных экземпляров в голодном состоянии составляло по 100 личинок и - 50 нимф, после напитывания – по 50 личинок и - 50 нимф. Результаты исследований приведены в табл. 1.

Анализ которой показывает, что у клещей D. reticulatus выход личинок соста-

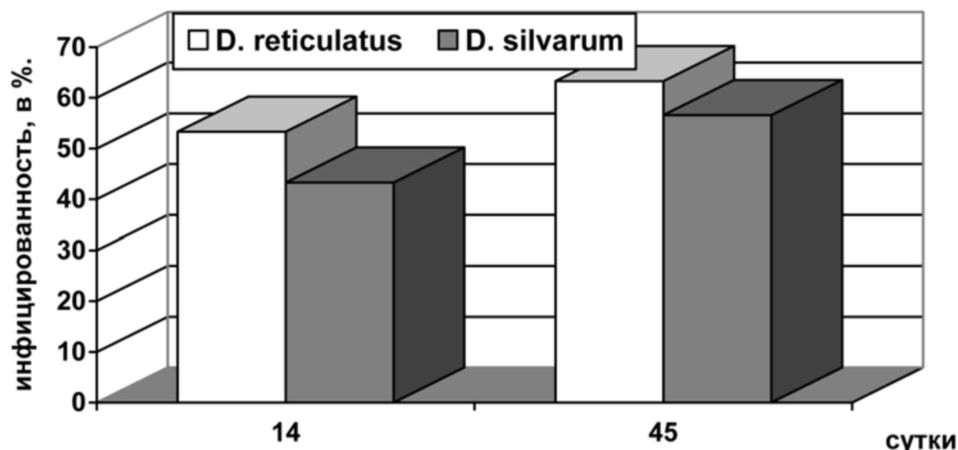


Рисунок 10. Уровень инфицированности клещей D. reticulatus и D. silvarum при интрацеломальном заражении

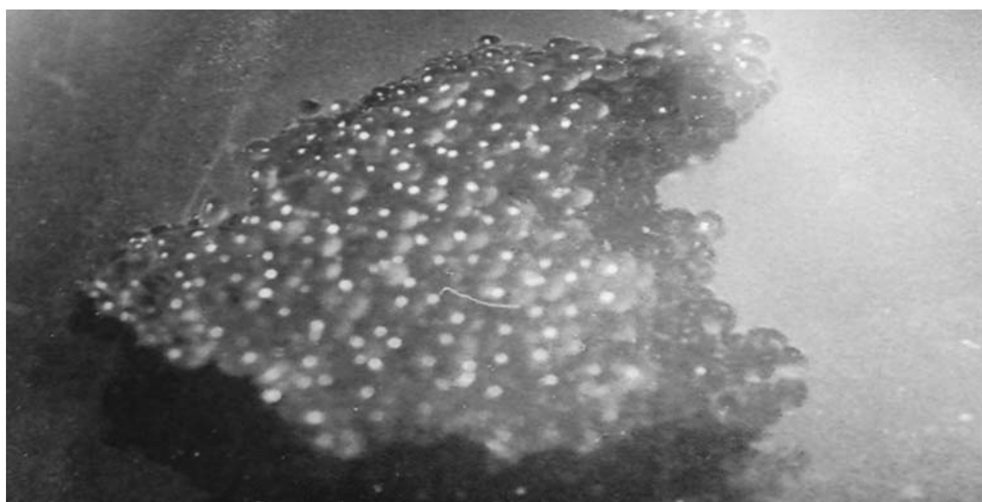


Рисунок 11. Яйцекладка

вил от 1458 до 1897 экземпляров, а у клещей D. silvarum – 367. При этом инфицированность анаплазмами после кровопитания личинками клещей D. reticulatus, составляла – 36,6±6,3%, а уровень инфицированности до кровопитания сосунков составлял – 21,0±4,1%. Уровень инфицированности анаплазмами в нимфальной стадии развития клещей D. reticulatus, после кровопитания голодными формами сосунков, был – 54,0±7,1%, а до кровопитания – 36,0±6,8. Инфицированность анаплазмами в личиночной стадии развития клещей D. silvarum, в напитавшемся состоянии была – 62,0±6,9%, а в голодных формах развития личинок – 20,0±0,4%. Уровень инфицированности анаплазмами нимф клещей D. silvarum после кровопитания сосунков, составил – 40,0±7,0%, а в голодном состоянии – 36,0±6,8%.

В мазках-отпечатках из слюнных желез напитавшихся взрослых самок клещей D. reticulates и D. silvarum, были обнаружены анаплазмозные включения в клетках слюнных желез (рис. 12).

В мазках-отпечатках из селезенок мышей-сосунков, на которых кормились личинки и нимфы клещей D. reticulatus и D. silvarum, из 15 исследованных - 14 положительных проб, в которых были обнаружены анаплазмозные включения, причем как в эритроцитах, так и в лейкоцитах.

Таким образом, показана не только восприимчивость клещей D. reticulatus и D. silvarum к A. sp. Omsk при интрацеломальном заражении, но и сохраняемость возбудителя до двух месяцев (срок наблюдения). Также определена возможность трансовариальной и трансфазовой передачи анаплазм в пределах одной генерации (срок наблюдения). Эксперименты с классическими переносчиками D. reticulatus и D. silvarum демонстрируют наряду с наличием трансмиссивного пути передачи возбудителя (о чем свидетельствует наличие анаплазм в селезенках контактных животных), эффективность медиаторного пути передачи. Об этом свидетельствует повышение числа инфицированных голодных нимф из потомства инфицированных самок. Обращает на

Таблица 1

Эффективность трансовариальной и трансфазовой передачи анаплазм (A. sp. Omsk) в экспериментальных линиях клещей

Экспериментальная линия клещей	Кол-во жизнеспособных личинок в кладке	личинки				нимфы			
		до кровопитания		после		до кровопитания		после	
		кол-во иссл. экз.	уров. ТОП в%	кол-во иссл. экз.	уров. ТОП в%	кол-во иссл. экз.	уров. ТФП в%	кол-во иссл. экз.	уров. ТФП в%
D. reticulatus	1897	100	24,0±4,3	70	37,1±5,8	50	30,0±6,5	50	58,0±7,0
D. reticulatus	1458	100	18,0±3,8	50	36,0±6,8	50	42,0±7,0	50	50,0±7,1
D. silvarum	367	100	20,0±4,0	50	62,0±6,9	50	36,0±6,8	50	40,0±7,0

Примечание: ТОП – трансовариальная передача; ТФП – трансфазовая передача

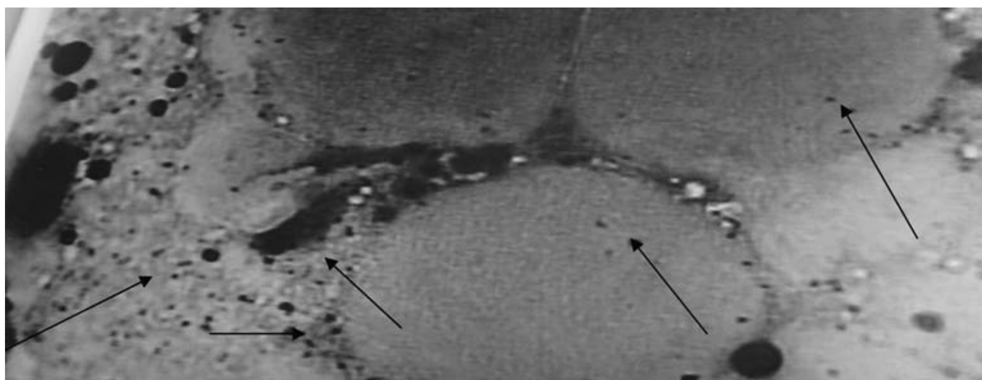


Рисунок 12. Инфицированные анаплазмами, клетки слюнной железы иксодовых клещей

себя внимание интенсивность накопления анаплазм в организме личинок (нимф): низкий уровень выявления анаплазм при индивидуальном исследовании голодных форм и резкое повышение инфицированности после кормления. Подобный механизм «реактивации», был описан применительно к R. rickettsii и клещам D. andersoni (S.F. Hayes, W. Burgdorfer, 1982 [4]; C.C. Gramman, G.A. Mc Donald, 1994 [5]). Вероятно, феномен реактивации анаплазм аналогичен феномену реактивации риккетсий.

РЕЗЮМЕ

Показана восприимчивость клещей D. reticulatus D. silvarum к экспериментальному заражению «Anaplasma sp. Omsk», сохранением в них возбудителя анаплазмоза до двух месяцев, а также определена возможность трансовариальной и трансфазовой передачи анаплазм в пределах одной генерации.

Эксперименты с классическими переносчиками анаплазм клещами свидетельствуют не только о трансмиссивном, но и медиаторном пути передачи возбудителя.

RESUME

Anaplasmae of strain Anaplasma Omsk werdetected 60 days after iutracelomical injection in experimental lines of ticks Dermacentor reticulates and Dermacentor silvarum. Effective transovarial and transphase transmission of bovine anaplasmasis agent were detected in these experimental lines of ticks. Effect of anaplasma cumulation was detected in larvae and numphs after blood feeding. Inclutions of Anaplasmae were detected in salivary geands of imago females of D. reticulates and D. silvarum. Our experimental data show role of ticks in transmission of bovine anaplasmasis agent in Sibirian conditius.

Литература

1. М.Ш. Акбаев. Паразитология и инвазионные болезни животных. М.: Колос, 1998. 472 с.
2. У.А. Абдуллаев, С.Т. Абдукаримова, Т.Н. Шевченко. Оценка эффективности лечения анаплазмоза крупного рогатого скота по биохимическим показателям // Гельминтозы и паразитарные болезни сельскохозяйственных животных в Узбекистане. Ташкент, 1984. С. 3-6.
3. Ю.С. Балашов. Взаимоотношения иксодовых клещей (Ixodidae) с возбудителями трансмиссивных инфекций позвоночных животных // Паразитология. М., 1995. Т. 29. С. 337.
4. S.F. Hayes, W. Burgdorfer. Reactivation of Rickettsia rickettsii in Dermacentor andersoni ticks: an ultrastructural analysis // Inf. Immunity. 1982. Vol. 37. P. 779-785.
5. C.C. Gramman, G.A. Mc Donald. The reactivation phenomen of Rickettsia rickettsii involves the expression of virulence factor proteins // 11-th Sesqui-Annual Meeting, American Society for Rickettsiology and Rickettsial Diseases.-St. Simons Island, Georgia, USA, 1994. P. 355-367.

УДК 619:618.714:636.22/28

В.Д. Мисайлов, С.М. Сулейманов, В.И. Михалев, И.С. Толкачев, Ю.В. Сергеев

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж

ХРОНИЧЕСКАЯ СУБИНВОЛЮЦИЯ МАТКИ У КОРОВ

Как известно по течению субинволюцию матки подразделяют на острую, развивающуюся в первые две недели, подострую – в течение 15-30 дней после отела и хроническую – через 30 и более дней после отела.